Aus dem Pathologischen Institut am
Städtischen Krankenhaus Berlin-Moabit
Dirigierender Arzt: Professor Dr. med. Karlferdinand Kloos

Experimentelle Fibrinolyse von Geweben (Kritik der Methoden und Entwicklung einer Modifikation der KSCN-Extraktionsmethode nach ASTRUP-ALBRECHTSEN) und Untersuchungen zur Frage eines Zusammenhanges zwischen Fibrinolyse und der Entstehung pulmonaler hyaliner Membranen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dietrich Köhn
aus Berlin

1965

Aus dem Pathologischen Institut am
Städtischen Krankenhaus Berlin - Moabit
Dirigierender Arzt: Professor Dr. med. Karlferdinand KLOOS

Experimentelle Fibrinolyse von Geweben (Kritik der Methoden und Entwicklung einer Modifikation der KSCN - Extraktionsmethode nach ASTRUP-ALBRECHTSEN) und Untersuchungen zur Frage eines Zusammenhanges zwischen Fibrinolyse und der Entstehung pulmonaler hyaliner Membranen

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dietrich KÖHN
aus Berlin

Dekan:	Professor Dr. med. Wilhelm Maßhoff
Referent:	Professor Dr. med. Karlferdinand Kloos
Korreferent:	Professor Dr. med. Max Schwab

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 15. Oktober 1965

INHALTSÜBERSICHT

		Seite
1.	Aufgabenstellung	5
2.	Definition des Begriffes "Fibrinolyse"	6
3.	Reagenzien und Methode	10
4.	Ergebnisse	15
5.	Diskussion	29
	a) Erörterung der Methode	
	b) Erörterung der Ergebnisse	
6.	Zusammenfassung	35
7.	Literaturverzeichnis	37

Aufgabenstellung:

Der Anteil der pulmonalen hyalinen Membranen an der Neugeborenensterblichkeit beträgt nach übereinstimmenden Literaturangaben 34 - 38% (AHVENAINEN, BARTER und MADDISON, KLOOS).

Entsprechend der Vorstellung, daß es sich bei den pulmonalen hyalinen Membranen um Fibrinabscheidungen handele, stellte LIEBERMAN die Hypothese eines Zusammenhanges zwischen einer Störung im fibrinolytischen System und der Genese der pulmonalen hyalinen Membranen auf.

Seine ursprüngliche Auffassung, daß es sich bei der Störung der Fibrinolyse-Aktivität um einen Mangel an Gewebsaktivator handele, berichtigte LIEBERMAN später dahingehend, die Störung komme durch die Intervention eines abnormen Inhibitors zustande. Die Quelle dieses Inhibitors sieht LIEBERMAN in vorgeschädigtem Plazentagewebe, wie dies zum Beispiel bei Diabetes mellitus der Mutter, bei vorzeitiger Plazentaablösung, Infarzierung der Plazenta oder ähnlichem vorliege. Er entwickelte weiterhin die Vorstellung, daß im Fruchtwasser Inhibitoren des fibrinolytischen Systems enthalten seien, die durch Aspiration in Kontakt mit fetalem Lungengewebe kommen und dort bei der Entstehung pulmonaler hyaliner Membranen eine Rolle spielen könnten. Somit schien es notwendig, diesem Problem nachgehend, eine größere Anzahl von Geweben auf ihr fibrinolytisches Potential zu untersuchen. Dabei war insbesondere die Aufgabe gestellt, nach der Anwesenheit der verschiedenen Faktoren der "Fibrinolyse", der 4. Phase des Gerinnungssystems, in Neugeborenenlungen mit unterschiedlichen pathologisch-anatomischen Befunden zu fahnden, ferner Plazentagewebe sowie Fruchtwasser daraufhin zu untersuchen. Aufgrund des Schrifttums sowie eigener Vorversuche ergab sich vorerst die Notwendigkeit, eine der Fragestellung adäquate Methode auszuarbeiten.

Definition des Begriffes "Fibrinolyse"

Die Fibrinolyse ist als eine Umkehr des Gerinnungsvorganges aufzufassen. Während des Gerinnungsvorganges wird Fibrinogen durch Abspaltung bestimmter Peptide polymerisationsfähig gemacht. Die Fibrinolyse ist ebenfalls ein proteolytischer Vorgang, bei dem Fibrin durch Fibrinolysin (Plasmin) in Peptide gespalten wird. Die Fermente beider Phasen werden durch Aktivatoren aus inaktiven Vorstufen gebildet, wobei zur Aktivierung der jeweiligen Fermentvorstufen - Prothrombin und Profibrinolysin (Plasminogen) - ein Blutaktivator von einem Gewebsaktivator unterschieden wird. Fibrinbildung (Gerinnung) und Fibrinolyse befinden sich im Organismus in einem vegetativ gesteuerten Gleichgewicht.

Die Bildung beider Fermente - Thrombin und Fibrinolysin - aus ihren inaktiven Vorstufen wird autokatalytisch gefördert. Möglicherweise bedürfen beide Reaktionen - der Gerinnungsvorgang sicher - noch der Mitwirkung bestimmter gegenüber Oberflächenkontakt empfindlicher Plasmaproteine.

Fibrinolysin ist das einzige proteolytische Ferment, das frei im Blut in größeren Mengen vorkommen kann. Es zeichnet sich gegenüber anderen proteolytischen Fermenten, mit denen der Organismus gleichfalls Fibrin aufzulösen vermag, durch seine Substratspezifität und durch die Intensität seiner Wirkung aus. Die Substratspezifität beruht auf der adsorptiven Bindung des Profibrinolysins an das Fibrinogen bzw. Fibrin. Der somit gegebene enge Kontakt zwischen Substrat und lytischem Ferment entzieht dadurch das Fibrinolysin auch der Wirkung des im strömenden Blut vorhandenen Antifibrinolysins.

Nach STAMM ist das Profibrinolysin an das Fibrin adsorptiv gebunden, nicht aber an das Fibrinogen. Das würde bedeuten, daß im Falle der Gerinnung, also der Abspaltung der Fibrinmoleküle von den größeren Fibrinogenketten, das Profibrinolysin sofort adsorptiv gebunden wird und es nun erst zur Polymerisation der Fibrinmoleküle zum Gerinnsel kommt, so daß dann also das Profibrinolysin im Gerinnsel gebunden vorliegt. Um innerhalb des Gerinnsels wirksam werden zu können, müßte somit ein Aktivator des Profibrinolysins erst in das Gerinnsel hineindiffundieren. Dem steht entgegen, daß in den übli

chen Fibrinogenpräparaten praktisch immer noch Profibrinolysin enthalten ist. Es ist noch keine Methode zur Gewinnung profibrinolysinfreien Fibrinogens bekannt (LASSEN).

Beim Ablauf der Fibrinolyse ist ein extravasaler Mechanismus der Profibrinolysinaktivierung von einem intravasalen zu unterscheiden. Mit der extravasalen Fibrinolysinbildung gewinnt der Organismus die Möglichkeit, Fibrinablagerungen innerhalb des Gewebes zu beseitigen. Eine ausreichende fibrinolytische Aktivität des Gewebes beschränkt die bindegewebige Organisation von Blutkoagulaten nach Traumen auf ein physiologisches Maß und stellt somit eine wichtige Voraussetzung für die Vermeidung pathologischer Narbensklerosen und die Erhaltung der Funktionstüchtigkeit des Gewebes dar. Der Gewebsaktivator des Profibrinolysins ist stabil und an die festen Gewebsproteine gebunden und dadurch wasserunlöslich.

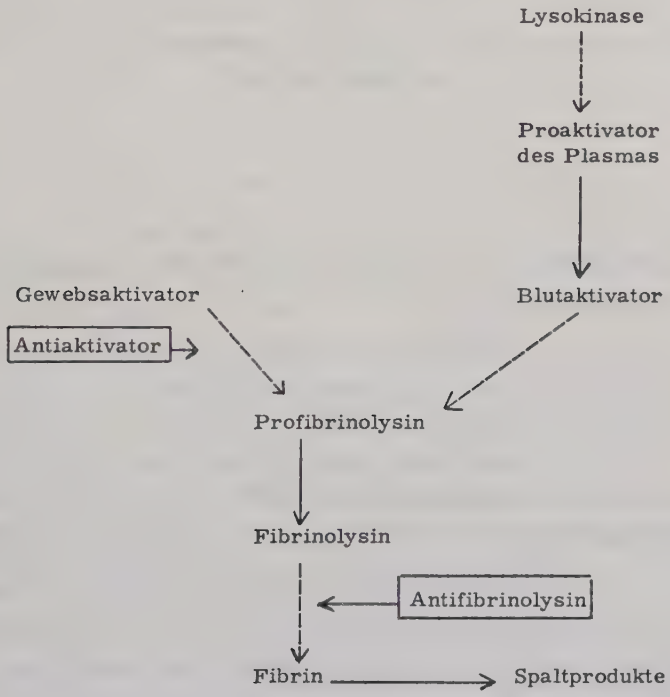
Das dem gegenüber labile fibrinolytische System des Blutes verfügt über einen präformierten Proaktivator, der seinerseits erst durch sogenannte Lysokinasen (in vitro z.B. Streptokinase) in die aktive Stufe überführt werden muß, um voll wirksam werden zu können. Das Blutaktivatorsystem des Profibrinolysins wird in jene Mechanismen eingeordnet, die das Gefäß- und Kapillarsystem des Organismus vor Thrombosierung und Obliteration schützen. Es besteht die Vorstellung, daß während des Lebens ständig Fibrinabscheidung und Fibrinolyse an der inneren Oberfläche der Blutgefäße miteinander abwechseln (DUGUID) und zwar in Abhängigkeit von Schwankungen der Kapillarpermeabilität mit konsekutiven, mikroskopisch kleinen Endothelschäden sowie von latent labilen vegetativen Steuerungsvorgängen. Experimentell konnten jedoch bisher fibrinolytische Spaltprodukte im strömenden Blut nicht nachgewiesen werden, was die Richtigkeit dieser Hypothese in Frage stellt (PIPER, KRÜGER).

Die ASTRUP'sche Schule vertritt die Ansicht, daß sowohl Plasma-Proaktivatoren als auch Gewebs-Proaktivatoren existieren. Beide sollen durch Lysokinasen zu wirksamen Aktivatoren transformiert werden. Während diese Hypo-

these auf die Plasma-Proaktivatoren zutrifft, existieren nach JÜRGENS Gewebs-Proaktivatoren realiter wahrscheinlich nicht. In den Geweben liegen viel mehr voll wirksame Aktivatoren in gebundener Form vor, die mit einem Inhibitorsatz im Gleichgewicht gehalten werden. Bei den ursprünglich angenommenen Proaktivatoren des Gewebes handelt es sich voraussichtlich um die Artspezifität korrigierende Proteine (JÜRGENS). Nach KLINE wird ein Proaktivatorkomplex angenommen, der von Spezies zu Spezies unterschiedlicher Natur ist.

Zum besseren Verständnis dieser Darlegungen sei auf das Schema 1 verwiesen.

Schema 1: FIBRINOLYSESCHEMA IN ANLEHNUNG AN ASTRUP UND KOLLER.



(———) ferment. Vorgang

(———) chem. Umwandlung

(▭) ferment. Hemmung

Experimentell ist die Aktivierung des fibrinolytischen Blutsystems u.a. durch Streptokinase möglich. Die Streptokinase, ein aus Streptokokken gewonnenes, klinisch anwendbares fermentatives Substrat, wandelt den Blut-Proaktivator zum Aktivator des Profibrinolysins um. Weiterhin soll die Streptokinase aber auch in der Lage sein, Profibrinolysin direkt zu Fibrinolysin zu transformieren (JÜRGENS, STAMM).

Reagenzien und Methode.

1.) Veronalpuffer nach OWREN (zit. nach JÜRGENS und BELLER) - p^H 7,4; Ionenstärke 0,154. -

1000 ml einer Veronalpufferstammlösung wurden folgendermaßen hergestellt: Lösung von 20,62 g Veronalnatrium in 1000 ml Aqua dest., dies ergab eine n/10-Natrium-Diäthylarbiturat-Lösung. 570 ml dieser Lösung wurden mit 430 ml n/10-HCl versetzt und in dieser Mischung 5,67 g NaCl gelöst. Vor Gebrauch wurde diese Pufferstammlösung mit der gleichen Menge 0,9%iger NaCl-Lösung verdünnt.

Da in der Pufferstammlösung nach mehr als 24-stündigem Stehen Barbituratkristalle ausfallen, war es erforderlich, den Stammpuffer nach der Mischung mit 0,9%iger NaCl-Lösung zu filtrieren. Durch die Präzipitation wird der Puffer nicht merklich geschwächt.

2.) Bovines Fibrinogen (Deutsche Hoffmann- La Roche A.G., Grenzach-Baden), das adsorptiv gebundenes Profibrinolysin enthält.

3 Ampullen Fibrinogen (à 200 mg) wurden im Mörser mit 0,9%iger NaCl-Lösung angeteigt, weiter verdünnt und schließlich auf 50 ml aufgefüllt. Anschließend weitere Auffüllung mit frisch filtrierter Veronal-Pufferlösung bis auf 100 ml. Auf diese Weise gelingt es, das Fibrinogen optimal zur Lösung zu bringen.

3.) Bovines Thrombin ("Topostasin" der Deutschen Hoffmann- La Roche A.G., Grenzach-Baden).

Es wurden 5 mg Thrombin in 3 ml 1-molarer $CaCl_2$-Lösung gelöst.

4.) Aus Humanplasma nach der Cohn-III-Fraktion gewonnenes und in Veronalpuffer gelöstes Plasmin (Prof. JÜRGENS, J.).

Das Plasmin wurde vor Gebrauch 1:4 mit OWREN-Puffer verdünnt.

5.) "Fibrinolysin" (Ortho-Research-Foundation, New Jersey).

Bei diesem standardisierten Aktivatorpräparat handelt es sich um ein aus Humanplasma fraktioniertes, gereinigtes System, das auf 72 Teile streptokinaseaktivierte Proaktivatoren noch 1 Teil Plasmin enthält (JÜRGENS, J.).

300 000 Einheiten wurden in 6 ml OWREN-Puffer gelöst.

6.) Streptokinase-Streptodornase ("Varidase" der Lederle-Cyanamid GmbH., München).

Eine Flasche (20 000 E Streptokinase und 5 000 E Streptodornase) wurden in 4 ml 0,9%iger NaCl-Lösung gelöst. Bei 4° Celsius kann die "Varidase"-Lösung eine Woche ohne Aktivitätsverlust aufbewahrt werden.

7.) Uricase Löwens (Løvens Kemiske Fabrik-Kopenhagen).

Uricase Löwens ist ein hoch gereinigtes und stabiles Enzympräparat. Die Substanz löst sich leicht in destilliertem Wasser oder Pufferlösungen, ihre Aktivität wird in Einheiten angegeben. Bei 2° Celsius kann die Uricase-Lösung mindestens zwei Wochen ohne Aktivitätsverlust aufbewahrt werden.

Ampullen zu 75 E wurden in unterschiedlichen Mengen OWREN-Puffer gelöst, um eine Verdünnungsreihe mit steigender Einheitszahl zu erhalten.

8.) Vorbereitung der Geräte:

Die zur Benutzung kommenden Geräte (Glasgefäße und Pipetten) müssen unbedingt sauber und steril sein. Eine Sterilisation ist deshalb erforderlich, weil bei Verwendung unsteriler Instrumente die Bildung unspezifischer bakterieller Proteinasen möglich ist.

Die Reinigung der Glasgefäße wurde folgenderweise durchgeführt (nach JÜRGENS, J. und BELLER, F.K.):

a.) 24-stündiges Einweichen in entspanntem Wasser.

b.) Bürstenreinigung mit Kernseife.

c.) Abspülen mit Leitungswasser.

d.) 24-stündiges Lagern in Chromschwefelsäure.

e.) 24-stündiges Spülen unter fließendem Wasser im Überlaufbecken.

f.) Spülen mit Aqua dest.

g.) Dampfsterilisation.

Als Platten benutzten wir sterile Plastik-Petrischalen der Firma B. Braun, Apparatebau Melsungen, von 80 mm Durchmesser.

9.) Herstellung der Fibrin-Profibrinolysin-Platten (nach ASTRUP-MÜLLERTZ):

In ein Reagenzglas wurden 0,1 ml der Thrombinlösung eingefüllt und dann 10 ml Fibrinogenlösung zugegeben. Diese Mischung wurde sofort blasenfrei in die vorgekühlte Petrischale gegossen. Ein kurzfristiges Schwenken der Petrischale bewirkt eine gleichmäßige Verteilung der Lösung über die Platte. Der Fibrinfilm soll eine Stärke von 1 mm erreichen. Anschließend Reifen der frisch gegossenen Platten, nur halb bedeckt, 4 Stunden auf ausgeloteter Unterlage bei Zimmertemperatur. Die Bildung von Kondenswasser kann auf diese Weise verhindert werden.

Die fertigen Platten halten sich entgegen einer Meinung von LIBAL im Kühlschrank bei 4^{o} Celsius ca. 10 Tage gebrauchsfähig.

10.) Aufbewahrung des zu untersuchenden Materials:
Das Gewebe (Lunge und Plazenta) und Fruchtwasser kamen entweder frisch, d.h. 30 Minuten bis 2 Stunden nach Entnahme zur Untersuchung oder wurden einige Zeit in der Tiefkühltruhe bei -25^{o} Celsius aufbewahrt.

Die bei Lagerung in der Tiefkühltruhe auftretende Abnahme der Fermentintensität ist so gering, daß sie vernachlässigt werden kann (LIBAL, B.).

11.) Aufbereitung des Untersuchungsmaterials:

Nach einem Verfahren von ASTRUP und ALBRECHTSEN können die wasserunlöslichen Gewebsfaktoren in 2-mol. KSCN löslich gemacht werden. Man findet eine optimale Lösung der Fibrinolysefaktoren bei 24-stündiger Extraktionsdauer unter 2-mol. KSCN-Einwirkung bei 4°Celsius. Voraussetzung ist eine Lösung des Homogenisates in einem Gewichtsverhältnis 1 : 10. Die Homogenisierung erfolgte in KSCN-Lösung 1/2 Minute bei 24 000 U/min., nachdem das im Gewebe enthaltene Restblut in Aqua dest. ausgewaschen war. Anschließend wurde das Homogenisat noch einmal 10 Minuten bei 3 000 U/min zentrifugiert.
Die KSCN-Rohextrakte wurden nach 24-stündiger Extraktionsdauer auf die Astrup-Müllertz-Platten aufgetragen.

Da in den Extrakten Aktivatoren und Inhibitoren gleichzeitig vorliegen, lassen sich also die fibrinolytischen Potentiale nur als Korrelationswerte zueinander bestimmen.

Die Gewebe wurden vor dem Homogenisieren in KSCN vier mal in Aqua dest. homogenisiert und gewaschen, wobei nachweisbar eine quantitative Entfernung aller Blutbestandteile stattfand. Daher hatten wir in den Gewebshomogenisaten nicht mehr mit einem Restgehalt von aus dem Blute stammenden Aktivatoren bzw. Profibrinolysin zu rechnen.

Plazentagewebe haben wir in zweifacher Form untersucht:
Es wurden Dezidua einerseits und Zottenapparat mit Chorionplatte andererseits vor dem Homogenisieren präparativ getrennt und isoliert untersucht.

Die Plazenten wurden nicht nur auf ihr fibrinolytisches Potential, sondern auch auf ihren Gehalt an Inhibitoren im direkten Test gegen Plasmin und gegen das Aktivatorpräparat "Fibrinolysin" der Ortho-Research-Foundation untersucht. Dazu wurde das aus Humanplasma nach der Cohn-III-Fraktion extrahierte und in Veronalpuffer gelöste Plasmin und das Aktivatorpräparat 1 : 1 mit OWREN-Puffer versetzt und als Vergleichslösung getestet. Eine gleiche Menge von beidem wurde ebenfalls 1 : 1 mit dem KSCN-Extrakt der Plazenta-

bestandteile versetzt und getestet. Durch Vergleich der Lysiszonendurchmesser Testlösung: Vergleichslösung erhält man aus dem gegebenenfalls verringerten Durchmesser ein Maß für die eventuell vorhandene Menge von Inhibitoren.

Die von uns untersuchten Fruchtwasserproben wurden steril entnommen (Sectio-Fälle). Sie wurden auf ihr fibrinolytisches Potential ohne und mit Streptokinase-Streptodornase-Zusatz (im Verhältnis 1 : 1)untersucht sowie dem Inhibitortest gegen Plasmin und Aktivatorsubstanz unterworfen.

12.) Beschicken und Inkubation der Testplatten:

Von jeder zu testenden Lösung wurden 0,02 ml auf die Platte pipettiert. Auf jede Platte wurden maximal 4 Tropfen aufgetragen. Ein kreiskonfigurierter Lysishof zeugt für die Exaktheit des Beschickungsvorganges.

Die Platten wurden abgedeckt 24 Stunden lang bei 37° Celsius bebrütet. Es ist darauf zu achten, daß die Schalen waagerecht stehen, um das Ineinanderlaufen der Testlösungen zu vermeiden.

13.) Messung der Lysiszonendurchmesser :

Die Lysiszonendurchmesser wurden mit dem FISHER-LILLY-ZONE-READER (SWIFT, London) gemessen. Es wurden jeweils 2 senkrecht aufeinander stehende Durchmesser bestimmt. Mit dem FISHER-LILLY-ZONE-READER ist es möglich, die Durchmesser auf 1/10 mm genau abzulesen. Weiterhin hat ma bei Verwendung dieses Gerätes die Gewähr, daß die gemessenen Diameter tatsächlich im Winkel von 90 Grad zueinander stehen.

Ergebnisse.

Als Gewebshomogenisate wurden von uns 7 fetale Lungen, 170 Neugeborenenlungen und 36 Plazenten untersucht.

Die fetalen Lungen wurden durch Interruption im 3. - 6. Schwangerschaftsmonat gewonnen. Die untersuchten Lungen wiesen folgende histologische Befunde auf:

Pulmonale hyaline Membranen	(56)
Ohne pathologischen Befund	(31)
Aspiration	(42)
Aspirationspneumonie	(23)
Neugeborenenpneumonie	(18)
Unreife	(7)

Alle Lungenproben wiesen ein lytisches Potential in gleichen Grenzen auf, unabhängig von den histologischen Diagnosen der Gewebe (Tabellen I, 1-7).

Aus Figur 1 ist die Korrelation zwischen Lysiszonendurchmesser und Aktivitätseinheit "Uricase Löwens" ersichtlich. Unter willkürlicher Bezugsetzung der aktiven Lungenpotentiale zu diesem Testpräparat ergibt sich, daß die fibrinolytischen Potentiale aller untersuchten Lungen zwischen 20 und 140 E "Uricase Löwens" liegen.

Die 36 untersuchten Plazenten boten histologisch folgende Befunde:

Ohne pathologischen Befund	(15)
Infarzierung	(14)
Reifungsstörung bei Diabetes der Mutter	(7)

Keine Charge der untersuchten Plazentaproben wies ein lytisches Potential auf. Dagegen konnten wir in allen Plazentaproben einen Inhibitorgehalt feststellen. Die Lysiszonendurchmesser lagen sowohl bei den Deziduahomogenisaten als auch bei den Homogenisaten des Zottenapparates mit Chorionplatte unter den Werten der Lysiszonendurchmesser der Vergleichslösungen (Tabellen II, 1-3).

Die 15 untersuchten Fruchtwasserproben (Sectio- bzw. Interruptiofälle) zeigten im Inhibitortest gegen Plasmin und die Aktivatorsubstanz keine Verringerung der Lysiszonendurchmesser in Bezug auf die Vergleichslösung. Weiterhin wiesen alle Fruchtwasserproben spontan (d.h. ohne Streptokinase-Streptodornase-Zusatz) keine Lysis auf, dagegen war bei allen nach Versetzen mit Streptokinase-Streptodornase-Lösung ein lytisches Potential zu verzeichnen (Tabelle III).

Tabelle I/1

Lungenhomogenisate (Mittelwert der Lysiszonendurchmesser in mm)

Diagnose: Pulmonale hyaline Membranen.

lfd. Nr.	Archiv-Nr.	mm	lfd. Nr.	Archiv-Nr.	mm
1	S. 999/62	14,1	29	E.1769/63	10,7
2	S.1085/62	24,0	30	E.1770/63	15,8
3	S.1107/62	19,0	31	E.1773/63	13,7
4	E.3551/62	19,4	32	E.2961/63	10,2
5	E.3552/62	18,0	33	E.2962/63	18,1
6	E.4280/62	16,1	34	E.2966/63	12,3
7	E.4284/62	12,2	35	E.2967/63	9,7
8	E.4286/62	9,5	36	E.2968/63	11,5
9	E.4287/62	16,6	37	E.3941/63	13,5
10	E.4289/62	15,4	38	E.3943/63	11,2
11	E.4290/62	15,0	39	E.3945/63	9,8
12	S. 65/63	19,0	40	E.3946/63	13,7
13	S. 146/63	12,3	41	E.3949/63	10,5
14	S. 308/63	13,8	42	E.3951/63	13,5
15	S. 531/63	14,6	43	E.3954/63	12,1
16	S. 566/63	12,0	44	E.3955/63	10,1
17	S. 655/63	11,9	45	E.5181/63	15,7
18	S. 801/63	10,4	46	E.5182/63	14,5
19	S.1118/63	11,8	47	E.5183/63	16,8
20	E. 521/63	13,2	48	E.5187/63	14,7
21	E. 522/63	24,5	49	E.5589/63	9,5
22	E. 523/63	26,1	50	S. 935/63	10,1
23	E. 524/63	22,8	51	S.1065/63	12,6
24	E. 525/63	22,7	52	S. 951/63	13,6
25	E. 526/63	23,9	53	S. 147/64	11,8
26	E. 530/63	19,4	54	E.1488/64	17,7
27	E.1764/63	14,0	55	E.1489/64	10,5
28	E.1766/63	14,0	56	E.1490/64	16,0

Arithmetischer Mittelwert: 14,6

Streubreite: 9,5 - 26,1

Tabelle I/2

Diagnose: Ohne pathologischen Befund.

lfd. Nr.	Archiv-Nr.	mm	lfd. Nr.	Archiv-Nr.	mm
1.)	S. 640/62	12,5	17.)	S. 757/63	12,2
2.)	S. 718/62	21,4	18.)	S. 934/63	18,2
3.)	S. 954/62	12,8	19.)	E. 519/63	26,1
4.)	S. 978/62	14,8	20.)	E. 527/63	24,0
5.)	S. 980/62	15,5	21.)	E.1765/63	13,2
6.)	S.1015/62	11,8	22.)	E.3977/63	13,6
7.)	S.1142/62	22,2	23.)	S. 10/64	15,4
8.)	E.2088/62	9,6	24.)	S. 143/64	16,6
9.)	E.2089/62	11,9	25.)	S. 171/64	12,4
10.)	E.3555/62	20,3	26.)	S. 232/64	16,7
11.)	S. 205/63	18,3	27.)	S. 239/64	13,0
12.)	S. 230/63	21,7	28.)	S. 259/64	13,2
13.)	S. 336 / 63	20,2	29.)	S. 260/64	10,1
14.)	S. 499/63	13,1	30.)	S. 261/64	11,0
15.)	S. 640/63	14,6	31.)	E.1483/64	15,0
16.)	S 654/63	17,5			

Arithmetischer Mittelwert: 15,8

Streubreite: 9,6 - 26,1

Tabelle I/3

Diagnose: Aspiration.

lfd. Nr.	Archiv-Nr.	mm	lfd. Nr.	Archiv-Nr.	mm
1.)	S. 421/62	17,3	22.)	S. 623/63	16,5
2.)	S. 953/62	12,9	23.)	S. 624/63	11,7
3.)	S.1141/62	24,8	24.)	S. 999/63	20,8
4.)	E.3550/62	11,9	25.)	S.1107/63	9,3
5.)	E.3554/62	21,4	26.)	E.1767/63	15,8
6.)	E.3556/62	19,0	27.)	E.1768/63	18,2
7.)	E.3557/62	12,3	28.)	E.1771/63	12,6
8.)	E.4278/62	14,0	29.)	E.2970/63	20,6
9.)	E.4279/62	16,4	30.)	E.2971/63	14,5
10.)	E.4281/62	14,2	31.)	E.3940/63	11,1
11.)	E.4283/62	12,0	32.)	E.3950/63	14,9
12.)	E.4285/62	16,4	33.)	E.3952/63	14,9
13.)	E.4291/62	10,9	34.)	E.5188/63	22,1
14.)	S. 64/63	19,0	35.)	E.5586/63	20,0
15.)	S. 99/63	17,4	36.)	E.5587/63	16,5
16.)	S. 266/63	11,4	37.)	E.5588/63	15,1
17.)	S. 275/63	18,0	38.)	S. 84/64	18,1
18.)	S. 279/63	11,4	39.)	S. 273/64	18,5
19.)	S. 529/63	18,7	40.)	E.1486/64	9,6
20.)	S. 591/63	16,6	41.)	E.1485/64	10,4
21.)	S. 599/63	14,9	42.)	E.1492/64	14,3

Arithmetischer Mittelwert: 15,6

Streubreite: 9,3 - 24,8

Tabelle I/4

Diagnose: Aspirationspneumonie.

lfd.Nr.	Archiv-Nr.	mm
1.)	E.4282/62	13,7
2.)	E.4288/62	11,1
3.)	S. 30/63	18,9
4.)	S. 929/63	10,6
5.)	S.1042/63	18,6
6.)	S.1052/63	15,2
7.)	S.1126/63	13,1
8.)	E. 529/63	13,9
9.)	E. 528/63	20,0
10.)	E.2960/63	13,3
11.)	E.3942/63	10,2
12.)	E.3948/63	12,9
13.)	E.3953/63	12,8
14.)	E.3956/63	10,9
15.)	E.5584/63	18,8
16.)	E.5585/63	17,3
17.)	E.5591/63	21,5
18.)	E.5186/63	23,1
19.)	E.5190/63	11,7
20.)	E.5191/63	16,5
21.)	E.5192/63	23,5
22.)	E.1484/64	15,5
23.)	E.1491/64	18,1

Arithmetischer Mittelwert: 15,7

Streubreite: 10,2 - 23,5

Tabelle I/5

Diagnose: Neugeborenenpneumonie.

lfd. Nr.	Archiv-Nr.	mm
1.)	S. 874/62	14,2
2.)	S. 884/62	9,2
3.)	S. 885/62	14,2
4.)	S.1096/63	12,6
5.)	S.1117/63	13,6
6.)	E.1772/63	14,1
7.)	E.2964/63	11,9
8.)	E.5184/63	19,9
9.)	E.5185/63	14,2
10.)	E.5189/63	14,4
11.)	E.5590/63	11,5
12.)	S. 94/64	12,3
13.)	S. 112/64	16,9
14.)	S. 138/64	17,3
15.)	S. 188/64	10,4
16.)	S. 246/64	13,3
17.)	S. 251/64	17,6
18.)	E.1487/64	18,0

Arithmetischer Mittelwert: 14,2

Streubreite: 9,2 - 19,9

Tabelle I/6

Diagnose: Unreife.

lfd. Nr.	Archiv-Nr.	mm
1.)	S. 870/62	14,1
2.)	S. 1007/62	9,2
3.)	S. 107/63	22,9
4.)	S. 234/63	16,4
5.)	S. 954/63	13,5
6.)	E. 232/63	21,5
7.)	E. 3831/63	16,4

Arithmetischer Mittelwert: 16,3

Streubreite: 9,2 - 22,9

Tabelle I/7

	Pulmonale hyaline Membranen	Ohne pathologischen Befund	Aspiration	Aspirations-pneumonie	Neugeborenen-pneumonie	Unreife
Anzahl der Fälle:	56	31	42	23	18	7
Arithmetischer Mittelwert:	14,564-14,6	15,777 - 15,8	15,62 - 15,6	15,7	14,23 - 14,2	16,28-16,3
Streubreite:	9,5 - 26,1	9,6 - 26,1	9,3 - 24,8	10,2 - 23,5	9,2 - 19,9	9,2 - 22,9

Figur 1

Uricase Löwens

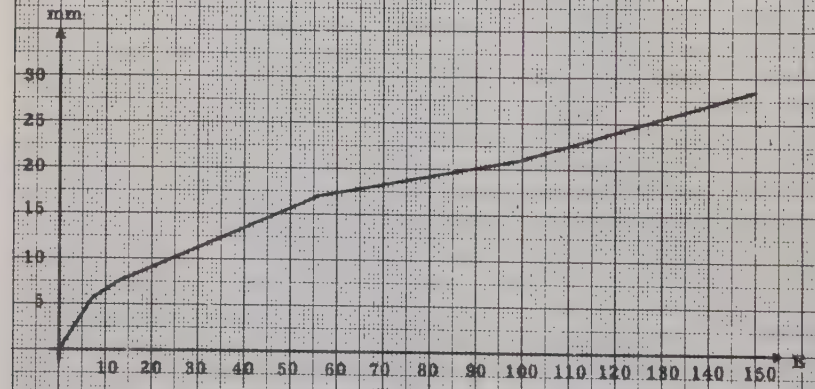


Tabelle II/1

Plazentenhomogenisate (Mittelwerte der Lysiszonendurchmesser in mm).

Diagnose: Ohne pathologischen Befund.

lfd. Nr.	Archiv-Nr.	Lysis	Inhibitor - Test gegen Plasmin		Aktivatorpräp.	
			Dez.	Z.-Ch.	Dez.	Z.-Ch.
1.)	E. 4856/62	-	13,2	12,3	16,8	17,9
2.)	E. 4868/62	-	12,1	11,8	17,7	18,0
3.)	E. 82/63	-	13,1	12,2	17,4	17,8
4.)	E. 105/63	-	11,6	11,8	16,8	17,1
5.)	E. 219/63	-	10,7	10,1	17,1	17,5
6.)	E. 258/63	-	12,7	11,4	17,2	17,0
7.)	E. 259/63	-	12,1	11,8	16,9	16,4
8.)	E. 260/63	-	13,2	13,6	16,3	16,8
9.)	E. 360/63	-	13,6	12,9	17,6	17,1
10.)	E. 432/63	-	14,0	13,1	16,9	17,4
11.)	E. 546/63	-	13,2	12,3	17,3	16,8
12.)	E. 569/63	-	12,2	11,8	17,7	16,9
13.)	E. 694/63	-	13,1	13,9	18,1	17,7
14.)	E. 695/63	-	14,2	13,4	16,5	16,9
15.)	E. 776/63	-	13,6	14,1	18,1	17,8

Plasmin-Vergleichslösung: 15,3 ; 15,3

Aktivator-Vergleichslösung: 21,5 ; 21,4

Tabelle II/2

Plazentenhomogenisate (Mittelwerte der Lysiszonendurchmesser in mm).

Diagnose: Infarkt-Plazenten.

lfd. Nr.	Archiv-Nr.	Lysis	Inhibitor-Test gegen			
			Plasmin		Aktivatorpräp.	
			Dez.	Z.-Ch.	Dez.	Z.-Ch.
1.)	E.4636/62	-	12,5	12,6	17,1	17,3
2.)	E.4904/62	-	12,1	12,7	16,9	17,1
3.)	E.4907/62	-	13,7	13,5	17,7	16,8
4.)	E. 265/63	-	12,6	12,8	17,3	16,6
5.)	E. 504/63	-	13,4	12,8	18,0	17,8
6.)	E. 512/63	-	13,4	13,3	17,3	16,7
7.)	E. 518/63	-	12,7	13,0	17,1	16,8
8.)	E. 553/63	-	13,0	12,9	17,6	17,0
9.)	E. 855/63	-	12,8	12,8	18,0	18,1
10.)	E.1093/63	-	13,3	12,7	17,8	17,8
11.)	E.3056/63	-	12,9	13,0	17,0	17,7
12.)	E.3076/63	-	13,0	13,1	16,8	17,6
13.)	E.4391/63	-	13,1	12,5	17,6	17,1
14.)	E.5049/63	-	14,0	13,4	16,7	16,9

Plasmin-Vergleichslösung: 15,2 ; 15,3

Aktivator-Vergleichslösung: 21,4 ; 21,5

Tabelle II/3

Plazentenhomogenisate (Mittelwerte der Lysiszonendurchmesser in mm).

Diagnose: Diabetes.

lfd.Nr.	Archiv-Nr.	Lysis	Inhibitor - Test gegen Plasmin		Aktivatorpräp.	
			Dez.	Z.-Ch.	Dez.	Z.-Ch.
1.)	E.2198/62	-	14,5	14,2	16,9	17,3
2.)	E.2509/62	-	13,2	13,5	16,5	16,8
3.)	E.1265/63	-	13,6	13,5	17,1	17,4
4.)	E.2117/63	-	13,2	12,9	17,5	17,1
5.)	E.2838/63	-	13,2	13,6	16,9	16,7
6.)	E.3967/63	-	14,0	13,4	17,2	17,1
7.)	E.4904/63	-	13,6	14,0	17,4	17,0

Plasmin-Vergleichslösung: 15,3 ; 15,2.

Aktivator-Vergleichslösung: 21,5 ; 21,5.

Tabelle III.

Fruchtwasser. (Lysiszonendurchmesser in mm).

lfd. Nr.	Spontanlysis	SK-Zusatz	Plasmininhib.	Aktivatorinhib.
1.)	-	8,3	15,1	21,4
2.)	-	8,2	15,0	21,4
3.)	-	9,1	15,0	21,3
4.)	-	10,0	15,2	21,5
5.)	-	9,2	15,1	21,5
6.)	-	12,5	15,1	21,5
7.)	-	9,0	15,2	21,5
8.)	-	9,7	15,0	21,4
9.)	-	11,2	15,0	21,3
10.)	-	13,4	15,2	21,4
11.)	-	10,2	15,1	21,4
12.)	-	9,4	15,0	21,5
13.)	-	10,3	15,1	21,5
14.)	-	8,7	15,2	21,5
15.)	-	12,2	15,1	21,4

Plasmin-Vergleichslösung: 15,1 ; 15,1

Aktivator-Vergleichslösung: 21,5 ; 21,4

Diskussion.

I.) Erörterung der Methode:

Nach Ansicht der meisten Autoren (z.B. BELLER, JÜRGENS, STAMM) stellt der Fibrinplattentest nach Astrup-Müllertz eine optimale Methode zur Untersuchung fibrinolytischer Gewebspotentiale dar. Mit dieser Methode gelingt es, die Anwesenheit eines Gewebsaktivators nachzuweisen. Dieser Aktivator wirkt auf das in den bovinen Fibrinplatten adsorptiv gebundene Profibrinolysin, welches nun als Fibrinolysin direkt lytisch wirksam wird.
In KSCN-Rohextrakten zu testenden Gewebsproben sind gleichzeitig Aktivatoren und Inhibitoren des Gewebes vorhanden. Auf der Platte wirksam wird lediglich die Menge an Aktivatoren, die das Maß vorhandener Inhibitoren übersteigt. Da die Lysiswerte durch die Korrelation der enthaltenen aktivierenden und hemmenden Faktoren bedingt ist, erlaubt die Methode zwar eine Aussage über das fibrinolytische Potential, nicht aber über den effektiven Gehalt der jeweiligen Faktoren.

II.) Erörterung der Ergebnisse:

a.) Lungengewebe:

Die aus der Größe der Lysishöfe zu erschließende Quantität des fibrinolytischen Potentials zeigte eine verhältnismäßig große Streubreite. Dies bestätigt die Ergebnisse anderer Autoren (ASTRUP, BELLER, JÜRGENS, KAULLA), daß die Individualschwankungen der fibrinolytischen Potentiale sehr hoch sind. Es ergaben sich aber keine wesentlichen Unterschiede für die verschiedenen Krankheitsgruppen. Die arithmetischen Mittelwerte sowie die Streubreite der Lysiszonendurchmesser waren bei allen Lungendiagnosen annähernd gleich.

Um eine eventuelle statistische Signifikanz in den Potentialdifferenzen der einzelnen Krankheitsgruppen zu erkennen, genügen aber die Begriffe der Streubreite und der arithmetischen Mittelwerte nicht.

Eine statistische Signifikanz ist determiniert nach:

$$S^2 = \frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n}$$

$$S^2_{\bar{x}} = \frac{S^2}{n}$$

$$S^2_D = S^2_{\bar{x}_1} + S^2_{\bar{x}_2}$$

$$t = \frac{D}{S_D}$$

Dabei ist S^2 die Summe der Abweichungen der einzelnen Fälle vom arithmetischen Mittelwert zum Quadrat erhoben, dividiert durch die Anzahl der Fälle. $S_{\bar{x}}$ ist die mittlere Abweichung des Durchschnittes. D ist die Differenz der arithmetischen Mittelwerte zweier unterschiedlicher Diagnosengruppen. Damit ist t das Kriterium der Signifikanz.

Bei Einsetzung der Werte aus den Tabellen I/1 und I/2 (Lungen mit pulmonalen hyalinen Membranen und ohne pathologischen Befund) ergibt sich folgende Berechnung:

Pulmonale hyaline Membranen

$S^2 = 17,5750$

$S = 4,2$

$S^2_{\bar{x}_1} = 0,31$

$S_{\bar{x}_1} = 0,56$

Lungen ohne pathologischen Befund:

$S^2 = 17,5106$

$S = 4,2$

$S^2_{\bar{x}_2} = 0,56$

$S_{\bar{x}_2} = 0,75$

Somit ergibt sich

$D = 1,2$

$S_D = 0,93$

$$t = \frac{1,2}{0,93} = 1,29$$

Eine Signifikanz wird an einem Quotienten erkannt, der über 2,0 liegt. Bei den Diagnosengruppen "pulmonale hyaline Membranen" und "ohne pathologischen Befund" läßt sich also eine signifikante Potentialdifferenz nicht feststellen.
Da die arithmetischen Mittelwerte der Diagnosengruppen "Aspiration" und "Aspirationspneumonie" zwischen denen der berechneten Gruppen liegen, erübrigt sich eine weitere Gegenüberstellung. In jedem Falle wäre eine Berechnung des Quotienten t noch geringer als 1,29. Eine statistische Berechnung der Gruppen "Neugeborenenpneumonie" und "Unreife" erübrigt sich wegen der geringen Anzahl der Fälle. Eine solche Gegenüberstellung ließe keinen sicheren Schluß im Sinne der Wahrscheinlichkeitsrechnung zu. Weiterhin hieße eine Zusammenfassung einzelner Gruppen, z.B. "Aspiration" und "Aspirationspneumonie", bei Gegenüberstellung der Gruppe "pulmonale hyaline Membranen" dem Sachverhalt Gewalt antun (FREUDENBERG). Selbst wenn also bei differenten pathologischen Bildern die Inhibitorsätze unterschiedlich sein sollten, werden sie in jedem Falle vom Aktivatorgehalt in gleichen Größen übertroffen, so daß das fibrinolytische Potential auch in vivo, auf das wir mit unseren Versuchen in vitro schließen können, gleich gewesen sein muß. Damit ist es ausgeschlossen, daß pulmonale hyaline Membranen auf der Basis eines fibrinolytischen Defizits entstanden sein können.

LIEBERMAN untersuchte 15 Lungen mit pulmonalen hyalinen Membranen im Gewebswürfel und fand dabei auf der Fibrinplatte keine Lysis. Das ist erklärlich, da durch die strukturelle Bindung der Gewebsaktivatoren nur diejenigen Anteile wirksam werden können, die durch den Anschnitt des Gewebes in einen direkten Kontakt mit dem Fibrinfilm kommen. Gleichzeitig kommen aber auch Inhibitoren durch die gesetzte Gewebsläsion zur Geltung, so daß der ohnehin geringe Aktivatoranteil durch die Wirkung der Inhibitoren vermindert wird.
Außerdem untersuchte LIEBERMAN eine weitere geringe Anzahl von Lungen mit pulmonalen hyalinen Membranen nach der Methode von ASTRUP-ALBRECHTSEN. Es gelang LIEBERMAN, sowohl Aktivatoren als auch Inhibitoren zu extrahieren und er glaubte, einen den Aktivatoranteil übersteigenden

Inhibitorsatz zu finden.

Nach der Methode von ASTRUP-ALBRECHTSEN sollen aus dem Überstand der KSCN-Homogenisate die Aktivatoren durch Ansäuerung mit 1-n HCl bis p^H 1 gefällt werden können. Die Inhibitoren sollen dabei in Lösung bleiben. Nach Neutralisierung der Überstände sollen aus diesen durch Zugabe eines 1/10 Vol. 0,1-m Na_2WO_4-Lösung die Inhibitoren ausgefällt werden können. Beide Niederschläge wären somit zu trennen und anschließend separiert wieder durch KSCN in Lösung zu bringen.

Uns gelang eine quantitative Fällung der Aktivatoren durch Ansäuerung bis p^H 1 sowie eine Fällung der Inhibitoren durch Wolframate nach erfolgter Neutralisierung aus dem Überstand allerdings bei keiner der untersuchten Proben.

Diese Methode erscheint uns zur Untersuchung eines solchen komplexen und durch die verschiedensten, auch kleinsten abweichenden Bedingungen beeinflußbaren Systems wie des der Fibrinolyse inadäquat. Ein derartiges Fermentsystem sollte nur unter möglichst strenger Einhaltung physiologischer Kautelen untersucht und bestimmt werden. Durch die Zugabe von Wolframaten ist zudem die Bildung von Wolframsäure-Eiweiß-Kolloiden möglich. Somit kann unter Umständen die Anwesenheit von Inhibitoren vorgetäuscht werden (JÜRGENS), da diese experimentellen Bedingungen ganz unphysiologisch sind; die hierbei wirksam werdenden Stoffe sind in vivo nicht existent.

ASTRUP glaubte, die Aktivatoren und Inhibitoren des Gewebssystems nach Lösung in KSCN dadurch trennen zu können, daß er die Überstände der Gewebshomogenisate, wie schon erwähnt, bis p^H 1 mit 1-n HCl ansäuerte, wobei die Aktivatoren ausfallen sollen. Nach ASTRUP's eigenen Vorstellungen gehören die Aktivatoren zu den Globulinen, die Inhibitoren dagegen zu den Albuminen. Eine Trennung der Albumine und Globuline ist aber durch Ansäuerung bis p^H 1 nicht zu erreichen, da der isoelektrische Punkt der Globuline bei p^H 5,5 - 6,3 liegt, der der Albumine bei p^H 4,9 (WUHRMANN und WUNDERLY).

Aus der vorliegenden KSCN-Lösung war eine Trennung der Globuline und Albumine wegen der hohen Ionenkonzentration von SCN^- nicht durchzuführen. Nach Dialyse gegen Aqua dest. kam es zur Fällung sämtlicher Eiweißbestandteile. Dieses Präzipitat war in 0,9 %iger NaCl-Lösung nicht komplett löslich. Vor allem gehen dabei die uns interessierenden Inhibitoren und Aktivatoren nur sehr beschränkt in Lösung. Sie sind erst nach erneuter Zugabe von KSCN vollständig in Lösung zu bringen. Auch der Versuch einer selektiven Lösung der Albumine durch Gegensetzen einer 20%igen Human-Albuminlösung erwies sich als nicht durchführbar. Eine präparative Elektrophorese war wegen der hohen SCN^--Konzentration nicht möglich (FROMM).

b.) Plazentagewebe:

In keiner Charge der untersuchten Plazentaproben konnte eine Spontanlysis festgestellt werden, grundsätzlich fand sich ein deutlicher Überschuß an Inhibitoren. Dieser Inhibitorengehalt zeigte eine deutliche, wenn auch nicht so hohe Indivudualschwankung wie das aktive Potential der Lungen.

Entgegen einer von LIBAL seinerzeit geäußerten Vorstellung wird heute allgemein die Existenz eines Gewebsaktivators in der Plazenta in Abrede gestellt. Mit den heute bekannten Methoden gelang es bisher nicht, einen Gewebsaktivator in der Plazenta nachzuweisen (BELLER). LIBAL aktivierte Plazentagewebe mit Streptokinase, berücksichtigte dabei aber nicht, daß Streptokinase Profibrinolysin direkt zu Fibrinolysin umwandelt. Da unter den von LIBAL gewählten Untersuchungsbedingungen das Gewebe niemals völlig blutfrei war, hat er mit seiner Methode lediglich den Profibrinolysingehalt des in der Plazentaprobe enthaltenen Restblutes bestimmt.

Obwohl ein Gewebsaktivator in der Plazenta bisher nicht nachgewiesen werden konnte, würde ein Fehlen eines solchen dem biologischen Prinzip der Bipolarität zuwiderlaufen. Da die Plazenta - wie nachgewiesen - Inhibitoren des fibrinolytischen Systems, sowohl gegen Fibrinolysin (Plasmin) als auch gegen die Aktivatoren enthält, eine Trennung der Faktoren aber bisher

nicht möglich wurde, ließe sich auch die Vorstellung vertreten, daß die Plazenta normalerweise einen das Maß der aktiven Faktoren übersteigenden Inhibitorsatz enthält.

In dem Inhibitor der Plazenta vermutete LIEBERMAN die Ursache für die Entstehung pulmonaler hyaliner Membranen, indem er einen Abstrom in den fetalen Kreislauf bei Schädigung der Plazenta annahm. Die physiologische Aufgabe der Gewebsfaktoren des fibrinolytischen Systems besteht jedoch darin, lokal, d.h. am Orte ihrer festen Bindung wirksam zu werden. Es ist daher auch nicht wahrscheinlich, daß dieser Inhibitor, selbst wenn es unter der Geburt zum Abstrom in den fetalen Kreislauf käme, in der Lunge des Neugeborenen eine Beeinträchtigung des physiologischen fibrinolytischen Geschehens hervorrufen sollte, da an diesem Orte das fibrinolytische Fermentsystem des Blutes in jedem Falle überwiegen würde. Zudem sind bei weitem nicht in allen Neugeborenentodesfällen mit pulmonalen hyalinen Membranen die Plazenten vorgeschädigt und umgekehrt gibt es zahlreiche Neugeborene mit schweren Schädigungen des Plazentagewebes, die keine Störungen der perinatalen Periode zeigen.

c.) Fruchtwasser:

Aus den Untersuchungen der Fruchtwasserproben ergibt sich, daß dieses entweder Profibrinolysin und Proaktivatoren oder wenigstens einen dieser beiden Faktoren des Systems enthält. Da die Streptokinase in Verbindung mit den im Fruchtwasser enthaltenen Faktoren eine Lysis auf der Fibrinplatte auslöst, müßte im Inhibitortest durch die Zugabe anderer aktivierender Stoffe - Fibrinolysin (Plasmin) bzw. Aktivatoren - ebenfalls eine Aktivierung des Profibrinolysins oder der Proaktivatoren des Fruchtwassers stattfinden, der Lysishof des auf Inhibitoren zu testenden Fruchtwassers im Falle ihrer Nichtexistenz gegenüber der Vergleichslösung also größer sein. Aus der Gleichheit der Lysishofdurchmesser ist somit ein Gehalt an Inhibitoren gegen Fibrinolysin wie auch gegen Aktivatoren zu folgern. Ein Effekt dieser Inhibitoren im Lungengewebe nach intrauteriner Aspiration ist nicht zu erwarten, da das gleichzeitig aspirierte aktive Potential den Inhibitorsatz immer übersteigt.

Zusammenfassung

1.) LIEBERMAN postulierte 1959 einen Zusammenhang zwischen der "Fibrinabscheidung" in den Ductus alveolares der Neugeborenen mit sog. pulmonalen hyalinen Membranen und einer Störung des fibrinolytischen Potentials des Lungengewebes.

2.) Von diesen pathogenetischen Vorstellungen ausgehend, erschien es notwendig, eine größere Anzahl von Lungengewebsproben bei Neugeborenentodesfällen verschiedener Genese auf ihr fibrinolytisches Potential zu untersuchen. Die Untersuchung der fibrinolytischen Lungengewebspotentiale erfolgte auf den Fibrin-Profibrinolysin-Platten von ASTRUP-MÜLLERTZ.
Ferner wurde entsprechend der Hypothese LIEBERMAN's über die pathogenetische Bedeutung der Plazenta für die Manifestation einer Gerinnungsstörung bei pulmonalen hyalinen Membranen in Plazentagewebe - gesondert in Decidua und Zottenapparat mit Chorionplatte - sowie im Fruchtwasser nach Inhibitoren des fibrinolytischen Potentials gefahndet.

3.) Die von LIEBERMAN angegebenen Ergebnisse ließen sich nicht reproduzieren. Darüber hinaus erwies sich die von LIEBERMAN angewandte Methode nach ASTRUP-ALBRECHTSEN: Extraktion der Gewebsfaktoren der Fibrinolyse durch KSCN und Separierung durch HCL- bzw. Wolframatfällung - für die zu beurteilenden physiologisch-chemischen Bedingungen als ungeeignet. Das Verfahren ist zu grob, es kann dabei eine Inhibitorwirkung vorgetäuscht werden.

4.) Nach eigenen, mittels einer geeigneten Methode erzielten experimentellen Ergebnissen darf die Entstehung von pulmonalen hyalinen Membranen bei Neugeborenen nicht auf ein Faktorendefizit des fibrinolytischen Potentials des Lungengewebes zurückgeführt werden.

5.) Die dabei gefundenen hohen Individualschwankungen der fibrinolytischen Lungengewebspotentiale sind anerkannt physiologisch. Eine signifikante Potentialdifferenz der einzelnen Gruppen läßt sich trotz dieser großen Streubreite statistisch ausschließen.

6.) In Plazenta und Fruchtwasser wurden Inhibitoren gegen Profibrinolysin-Aktivatoren und Fibrinolysin nachgewiesen.

7.) Die lokale Bindung und Wirkung der Gewebsinhibitoren macht eine Intervention im fibrinolytischen Potential des Lungengewebes unwahrscheinlich. Zudem sind die gefundenen Inhibitorquantitäten so gering, daß dadurch selbst bei möglichem Abstrom in den fetalen Kreislauf und Aspiration in die fetale Lungen eine Beeinträchtigung des physiologisch immer vorhandenen fibrinolytischen Potentials in den Lungengeweben praktisch nicht annehmbar erscheint.

Literaturverzeichnis

1.) Albrechtsen, O.K.: The fibrinolytic agents in saline extracts of human tissues. Scand. Journ. of Clin. and Laborat. Invest. Vol. X, (1958), 91

2.) Albrechtsen, O.K.: The fibrinolytic activity of human tissue. Brit. Journ. Haemat. 3:284 (1957)

3.) Albrechtsen, O.K.: Fibrinolytic activity in the organism. Universitetsforlaget I, Aarhus, 1959

4.) Astrup, T.: Fibrinolysis in the organism. Blood Vol. IX, No. 9, 781 (Sept. 1956).

5.) Astrup, T.: Aktivatoren und Inhibitoren des fibrinolytischen Systems. X, Symposium, IV. Internationaler Kongress für Biochemie, Wien 1958

6.) Astrup, T.: Medizinische Grundlagenforschung. Herausgeber: K. Fr. Bauer (Erlangen) Bd. II, 195 ff, Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 1959

7.) Astrup, T.: Physiology of Fibrinolysis. Thromb. Diath. haem., Suppl. 1 ad Vol VI (1960)

8.) Astrup, T.; Albrechtsen, O.K.: Estimation of the Plasminogen-Activators and the Trypsin-Inhibitors in animal and human tissues. Scand-Journ. of Clin. and Laborat. Invest. Vol. 9, 233 (1957)

9.) Astrup, T.; v. Creveld, S.: Normal fibrinolytic system in blood in congenital afibrinogenemia and its significance. Thromb. Diath. haem. Vol. VI, No. 2/3, 188 (1961)

10.) Astrup, T.; Coccheri, S.: Thromboplastic and fibrinolytic activity of the arteriosklerotic human aorta. Nature Vol. 193, No. 4811, (1962), 182

11.) Astrup, T. and Müllertz, S. (Dänemark): The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. Arch. of Biochemistry and Biophysics Vol. 40, (1952), 346.

12.) Astrup, T. and Permin, P. M.: Fibrinokinase and fibrinolytic enzymes. Nature Vol. 161 (1948), 689

13.) Astrup, T.; Piper, J. and Rasmussen, J.: The fibrinolytic system in human blood, as exemplified in a case of agammaglobulinemia and a case of macroglobulinemia. Scand. Journ. of Clin. and Laborat. Invest. Vol. 12, No. 3, (1960).

14.) Astrup, T.; Rasmussen, J.: Estimation of fibrinolytic activity in blood. Seventh congress of the International Society of Hematology, Rom 1958

15.) Astrup, T. and Sterndorff, I.: The plasminogenaktivator in animal tissue. Acta physiol. Scand 36 (1956), 250

16.) Astrup, T. and Sterndorff, I.: Fibrinolysokinase activity in animal and human tissue. Acta physiol. Scand. 37 (1956), 40

17.) Astrup, T. and Sterndorff, I.: The effects of sodium citrate and an excess of plasminogen in fibrinolytic agents. Thromb. Diath. haem. Vol. IV. No. 3/4, 462 (1960)

18.) Auerswald, W.; Doleschel, W.: Zur Frage der Beständigkeit humaner fibrinolytisch aktiver Substanzen bei neutralem pH in Abhängigkeit von der Ionenstärke. Med. Exp. 2, 42 (1960)

19.) Auerswald, W. and Doleschel, W.: Critical evaluation of the fibrin plate method for estimating fibrinolytic enzymes and activators. Thromb. Diath. haem. Vol. V, No. I, 112, (196

20.) Beller, F. K.: Persönl. Mitteilungen

21.) Beller, F. K.; Goessner, W. and Herrschlein, H. J.: Tissue Activator of the Fibrinolytic System in Placental Tissue. Obstetrics and Ganecology, Vol. 20, No. 1, July 1962.

22.) Egli, H.: Physiologische Grundlagen der Fibrinolyse. Exp. und the ther. Fibrinolyse V. Hamburger Symposiom über Blutgerinnung, Mai 1962 Herausgeb.: L. Zukschwerdt und H. A. Thies

23.) Freudenberg, K.: Persönl. Mitteilungen

24.) Fromm: Persönl. Mitteilungen

25.) Halse, Th.: Fibrinolyse.
Editio Cantor, Aulendorf (Württemberg), 1948

26.) Haupt, H.: Die Blutgerinnung beim Neugeborenen.
(Physiologie, Pathologie und Therapie)
Monatsschr. f. Kinderheilk., Bd. 104,
Heft 1, S. 1-6 (1955)

27.) Holland, R.H.; Pulmonary hyaline membrane disease in adults.
Americ. Review of Respir. Diseases,
Vol. 84, No. 5, (1961), S. 719

28.) Jürgens, J.: Persönl. Mitteilungen

29.) Jürgens, J.: Die klinische Bedeutung fibrinolytischer Vorgänge.
Dtsch. Med. Wschr. 84, II (1959) 2285

30.) Jürgens, J. und Beller, F.K.: Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse.
Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1959

31.) Kaulla, K.N. v. und Kaulla, E. v.: Spontane Schwankungen der Gerinnbarkeit menschlichen Blutes in vivo.
Med. Welt Nr. 36: 1850-1855 (1961)

32.) Kline, D.L.: The purification and cristallisation of plasminogen (profibrinolysin).
J. biol. Chem. 204 (1953), 949

33.) Kloos, K.: Pulmonale hyaline Membranen.
Dtsch. Med. Wschr., (1959), S. 78

34.) Kloos, K., G. Malorny, H. Wulf: Experimentelle pulmonale hyaline Membranen.
Verhandl. der Deutsch. Ges. f. Path.
41. Tag., April 1957, Fischer/Stuttgart 1958,
S. 180

35.) Kloos, K., B. Libal: Pulmonale hyaline Membranen bei Neugeborenen und postpartale Gerinnungsstörungen.
Klin. Wschr. 40, (1962), 798

36.) Kloos, K. und H. Wulf: Die Pathogenese der pulmonalen hyalinen Membranen bei Neugeborenen. Dtsch. Med. Wschr. 87 (1962), 869

37.) Koller, F.: Fibrinolyse. Schweiz. Med. Wschr. 44 (1960), 1233

38.) Künzer, W.: Zur Physiologie der Blutgerinnung bei Neugeborenen. Dtsch. Med. Wschr. 89 (1964), 1005

39.) Künzer, W.: Zur Physiologie der Blutgerinnung bei Neugeborenen, II. Teil. Dtsch. Med. Wschr. 89 (1964) 1077

40.) Künzer, W.; Ströder, J.: Profibrinolysin und Antifibrinolysin bei Unreifgeborenen. Annales Paediatrici 197 (1961), 9

41.) Krüger, J.: Untersuchungen über die Fibrinolyse mit immunologischen Methoden. Inaug. Diss. 1963, FU Berlin.

42.) Lassen, M.: Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method. Acta physiol. Scandinavica 87 : 371, 1953

43.) Libal, B.: Über das fibrinolytische Potential von Placentagewebe Inaug. Diss. 1961, FU Berlin

44.) Lieberman ,J.: Clinical syndromes associated with deficient lung fibrinolytic activity. I. A new concept of hyaline-membrane disease. The New England Journ. of Med., Vol. 260 (1959), 619

45.) Lieberman, J.: Clinical syndromes associated with deficient fibrinolytic activity of the lung. II. Cystic fibrosis of the pancreas. Pediatrics, Vol. 25, No. 3, Part. I.: 419,(1960)

46.) Lieberman, J.: The nature of the fibrinolytic-enzyme defect in hyaline-membrane disease. The New England Journ. of Med. Vol. 265 (1961), 363

47.) Lieberman, J.; F. Kellog: A defiency of pulmonary fibrinolysis in hyaline-membrane disease. The New England Journ. of Med., Vol. 262 (1960), 999

48.) Lieberman, J.; F. Kellog: The fibrinolytic-enzyme defect of hyaline-membrane disease. California Medicine, Vol. 95, (1961) 278

49.) Marx, R.: Haemostaseologie. Habilitationsschrift, München 1953

50.) Marx, R.: Neue Ergebnisse und Studien über die Bedingtheit der Fibrinolyse im Serum in vitro. Thrombose und Embolie, I. Internationale Tagung, Basel 1954

51.) Marx, R.: Wirkungsweise der Fibrinolytika und Antifibrinolytika. Exp. und ther. Fibrinolyse V. Hamburger Symposion über Blutgerinnung, Mai 1962 Herausgeb.: L. Zukschwerdt und H. A. Thies Friedrich-Karl Schattauer-Verlag, Stuttgart

52.) Matis, P.: Fibrinolyse und Vasoaktivität. Exp. und ther. Fibrinolyse V. Hamburger Symposion über Blutgerinnung, Mai 1962 Herausgeb.: L. Zukschwerdt und H. A. Thies Friedrich-Karl Schattauer-Verlag, Stuttgart

53.) Montigel, C.: Chemie, Physiologie und Pathophysiologie des Gerinnungsvorganges und der Antikoagulantien; Kontrolle der antikoagulierenden Therapie. Friedrich-Karl Schattauer-Verlag, Stuttgart, 1961

54.) Müllertz, S.: Das Plasmin-Aktivator-System im menschlichen Blut. Thrombose und Embolie, I. Internationale Tagung, Basel 1954

55.) Müllertz, S.: A plasminogen activator in spontaneously active human blood. Proc. Soc. exper. Biol. u. Med. 82 (1953), 291

56.)	Müllertz, S. und M. Lassen:	An activator system in blood indispensable for formation of plasmin by streptokinase. Proc. Soc. exper. Biol. u. Med. 82 (1953), 264
57.)	Owren :	The coagulation of blood. Oslo, 1949
58.)	Permin, P. M.:	Fibrinolytic activator in animal tissue. Acta physiol. Scandinav. 21 : 159, 1950
59.)	Phillips, L. L. und Skrodelis, V.:	A comparison of the fibrinolytic enzyme system in maternal and umbilicalcord blood. Pediatrics, Vol. 22, No. 4, Part. I., (1958), 715
60.)	Phillips, L. L. und Skrodelis, V.:	Clinical studies of the fibrinolytic enzyme system. Journ. of Clin. Invest., 37 (1958), 965
61.)	Samartzis, E. A. and Cook, C. D.:	The relationship between age and fibrinolytic activity of serum. Acta Paediatrica 49 : 724 (1960)
62.)	Samartzis, E. A.; Cook, C. D.; Rudolph, A. J.:	Fibrinolytic activity in the serum of infants with and without the hyaline membrane syndrome. Acta Paediatrica 49 : 727 (1960)
63.)	Sawyer, W. D.; Alkjaersig, N.; Fletcher, A. P. and Sherry, S.:	A comparison of the fibrinolytic and fibrinolytic effects of plasminogen activators and proteolytic enzymes in plasma. Thromb. Diath. haem., Vol. V., No. 2 149, (1960).
64.)	Stamm, H.:	Einführung in die Klinik der Fibrinolyse S. Karger, Basel, New York 1962
65.)	Stamm, H.:	Einführung in das Problem der therapeutischen Fibrinolyse. Dtsch. Med. Wschr., 1962 II, S. 2328.
66.)	Sträßle, R.:	Antifibrinolyse. Schweiz. Med. Wschr. 90 (1960), 1249
67.)	Thies, H. A.:	Postoperative Fibrinolyse. Barth, Leipzig 1960
68.)	Wuhrmann/Wunderly:	Die Bluteiweißkörper des Menschen. - Benno Schwabe u. Co. Verlag, Basel, 1952.

Die Arbeit wurde durch die materielle Unterstützung von Seiten der Deutschen Forschungsgemeinschaft ermöglicht.
Herrn Professor Dr. med. Karlferdinand KLOOS möchte ich für die Überlassung des Themas und für seine Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit danken.
Ferner danke ich den Herren Professor Dr. med. BELLER - New York, Professor Dr. med. JÜRGENS - Frankfurt/M. und Herrn Dipl.-Chem. FROMM - Berlin für die Beratung sowie Herrn Professor Dr. med. FREUDENBERG - Berlin für die Anleitung bei der statistischen Auswertung.

Die Cyanamid GmbH. Lederle Arzneimittel in München hat uns durch die kostenlose Lieferung von Streptokinase-Streptodornase ("Varidase") und die Deutsche Hoffmann-La Roche AG in Grenzach - Baden durch die kostenlose Lieferung von bovinem Thrombin ("Topostasin") und Fibrinogen in dankenswerter Weise unterstützt.

LEBENSLAUF

Am 12. April 1933 wurde ich in Berlin als Sohn des Kaufmanns Walter Köhn und seiner Ehefrau Else, geb. Schön, geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule in Berlin, der Mittelschule in Jacobshagen/Pommern und der Schinkel-Oberschule in Berlin bestand ich am 10. Juni 1953 das Abitur.

Von November 1953 bis September 1954 habe ich als Druckereiarbeiter und von Oktober 1954 bis August 1955 als Krankenpfleger gearbeitet.

Im September 1955 begann ich mit dem Studium an der Medizinischen Fakultät der Humboldt-Universität Berlin, wo ich nach vier Semestern die ärztliche Vorprüfung und am 23. Dezember 1960 das Staatsexamen ablegte. Im April 1961 verzog ich nach West-Berlin und erhielt hier nach Ableistung meiner Medizinalassistentenzeit die Bestallung als Arzt mit Geltung vom 23. Mai 1963.

Vom 1. Juni 1963 bis 31. Juli 1964 arbeitete ich als Assistenzarzt im Pathologischen Institut am Städtischen Krankenhaus Moabit. Seit dem 1. August 1964 bin ich als Assistenzarzt auf der Gynäkologischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Moabit beschäftigt.

Photodruck der Photo Copie